

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
⑪ 公開特許公報 (A) 昭57-116015

⑫ Int. Cl.³
 A 61 K 31/47
 // C 07 D 491/22

識別記号 A DU
 営業整理番号 6675-4C
 8115-4C

⑬ 公開 昭和57年(1982)7月19日
 発明の数 1
 審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ 抗腫瘍剤

⑮ 特願 昭56-1150
 ⑯ 出願 昭56(1981)1月9日
 ⑰ 発明者 宮坂貞
 横浜市緑区青葉台1丁目27番11
 号
 ⑱ 発明者 務台方彦
 東大和市清水4丁目988番地
 ⑲ 発明者 横倉輝男
 東京都世田谷区祖師谷1丁目36
 番8号

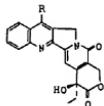
⑳ 発明者 沢田誠吾
 東京都目黒区緑が丘3丁目6番1
 号
 ㉑ 発明者 野方健一郎
 三鷹市車丸3丁目2番5号
 ㉒ 発明者 古田富雄
 国立市北2丁目15番6号さつき
 荘
 ㉓ 出願人 株式会社ヤクルト本社
 東京都港区東新橋1丁目1番19
 号
 ㉔ 代理人 弁理士 南孝夫

明細書

1. 発明の名称 抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

一般式



(式中 R は低級アルキル基であるか又は $\text{CH}_2\text{OR}'$ 又は CHO 又は COOH であり、 R' は H 又はアシル基である)

で表わされるカンプトテシン誘導体を有効成分とする抗腫瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は新規な抗腫瘍剤に関するものである。

従来、癌の化学療法剤として、アルキル化剤、代謝拮抗剤、抗生素等が用いられているが、一般に、化学療法剤は悪性及び転化作用が強く、十分な治療効果をあげる化学療法剤はまだ得ら

れていないのが実情である。

カンプトテシンは落葉喬木樹 (*Camptotheca acuminata* Nels.) から抽出・単離されたアルカロイドで、強力な核酸合成阻害作用を有し、その作用は迅速かつ可逆性を示すことが報告で、既存の制癌剤と交叉耐性を示さないという強烈な作用機作をもつ抗腫瘍性物質であり、マウス白血病 L1210、ラットウオーカー 256 肉腫など実験移植癌に対して、強力を制ガン効果を示すことが認められているが、毒性作用を有するため、医薬品としての有用性が自ら、制限されている現状にある。

本発明者らがかかるカンプトテシンについて、毒性及び副作用が弱く、かつ、抗腫瘍効果の強いカンプトテシン誘導体を得るべく種々のカンプトテシン誘導体を合成し、検査実験の結果、

一般式



(式中 R は低級アルキル基、又は CH_2OR 又は CHO 又は COOH であり、R¹ は H 又はアシル基である。)

で表わされるカンプトテシン誘導体がその目的に適うものであることを見出した。本発明はかかる知見に基づくものである。

本発明の抗腫瘍剤においては、前記の一般式のカンプトテシン誘導体はそのまま、あるいはアルカリ金属又はアルカリ土金属の水酸化物又は塩を用いて塩に変換したものをお用いることができる。

本発明の抗腫瘍剤は、非経口投与により使用するのが良く、注射剤、点滴剤などの剤形で投与することができる。

本発明の抗腫瘍剤の投与量は常法に従い行うことができる。

塩地 一般式のカンプトテシン誘導体ならびにその塩類の投与量は、市販目的によつても異なるが、通常、成人 1 日当り、2 g ~ 200 mg/kg(体重)であり、特に好ましい量は、10 ~ 25 mg/kg(体

量)である。

次に本発明の抗腫瘍剤の抗腫瘍作用及び性について説明する。

(1) 抗腫瘍作用

腫瘍細胞における抗腫瘍効果は、他の癌細胞ににおける抗腫瘍効果に対しても信頼できる結果をもたらすことは既に明らかにされているので本発明者はマックスをモデルとして抗腫瘍効果を検討した。

実験例 1

実験方法

5×10^5 個のマックス白血病細胞 L1210 を BDF₁ マックス 1 頭 100 mg の腹腔内移植し、移植後 1 日から連続 5 日間被検物質を腹腔内に投与し、その効果を観察した。抗腫瘍効果は上記の実験条件で薬物投与群の平均生存日数(D)と薬物非投与群の平均生存日数(C)との比 (D/C 比) をもつて表わし、120% 以上延命した場合を有効と判定した。

実験結果

- 5 -

前掲一般式の物質について抗腫瘍効果試験を行つた結果を表 1 に示す。

表 1

被検物質 (R)	投与量 (mg/kg)	D/C 比
CH ₃	2.5	1.63
CH ₂ CH ₃	2.5	>3.50
CH ₂ OH	2.5	1.30
CHO	2.5	>2.96
COOH	2.5	1.20
CH ₂ OCOCH ₃	2.5	>3.90
CH ₂ OCOOCH ₂ CH ₃	2.5	1.78
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	2.5	>3.19

註: R は前掲一般式における置換基を示す。

実験例 2

前掲一般式の物質について最少有効量と最大耐用量を調べ、それから療法係数を算定した。

- 6 -

表 2

被検物質 (R)	最少有効量 (mg/kg)	最大耐用量 (mg/kg)	療法係数
H (カンプトテシン)	5	2.5	5
CH ₃	5	5.0	1.0
CH ₂ CH ₃	2	2.5	1.25
CH ₂ OH	3	5.0	1.0
CHO	5	5.0	1.0
COOH	1.0	2.00	2.0
CH ₂ OCOCH ₃	2	2.5	1.25
CH ₂ OCOC ₂ CH ₃	5	3.5	7
CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	7	2.5	1.25

■ 療法係数 = $\frac{\text{最大耐用量}}{\text{最少有効量}}$

前掲

表 2 に示されるように、本発明に使用する一般式のカンプトテシン誘導体は、カンプトテシンに比して、療法係数は約 2 倍 ~ 4 倍に増大してあり、カンプトテシンに比べて抗腫瘍効果の上昇あるいは毒性の低下が認められる。

実験例 3

- 7 -

体積 2.0 ml 前後の BDF₁ 構成を 1 時間 2.0 匹ずつ用い、一般式のカントナントシン誘導体を投与し、急性毒性 (LD₅₀) を調べた。

その結果を表 3 に示す。LD₅₀ は被検物質投与後、一時間におけるマウスの生死の状況を観察し、その致死率からリツチフィールドウイルコクジン法により算出した。

表 3

被検物質の 構造	LD ₅₀ (mg/kg)
CH ₃	4.0
OH ₂ CH ₃	3.0
CH ₂ OH	4.0
CHO	6.5
COOH	25.0
CH ₂ COOCH ₃	3.0
CH ₂ COOCH ₂ CH ₃	5.0
CH ₂ COOCH ₂ CH ₂ CH ₃	3.0

註 1: 説と部位は腹腔である。

2: BIE 前端一般式における置換基を示す。

- 7 -

ム層を保護マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固する。残留物をシリカゲル (10 g) カラムクロマトグラフィ (クロロホルム) により精製し、更に n-ヘキサン-クロロホルムより再結晶すると調合化合物 127 号 (収率 1.75 g) が黄色針晶として得られる。

製造例 2

7-エチルカントナントシンの製造

カントナントシン (1.00 g, 2.87 mmole)、炭酸第一鉄・七水和物 (5.60 g, 20.1 mmole) 及び 1-ブロボノール (6 ml, 8.61 mmole) を硫酸水溶液 (水 3.0 ml、濃硫酸 1.5 ml) に溶解し、水冷槽下に 5.0 ml-過酸化水素水 (2.1 ml, 20.1 mmole) を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の添加後 1 時間後搅拌を続ける。反応混合物を水水 (2 L) で希釈し、クロロホルム (2.5 L) で抽出する。このクロロホルム層を保護マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固し、残留分をシリカゲル (15 g) カラムクロマトグラフィ (クロロホルム) で分離精製し、

特許昭 57-116015 (3)
以下に本発明の抗腫瘍剤の有効成分である前述の一般式の化合物の製造例を述べる。

製造例 1

7-メチルカントナントシンの製造

炭酸第一鉄・七水和物 (4.17 g, 15 mmole) 及びエタノール (3 ml, 6.0 mmole) を水 (3.0 ml) に溶解し、カントナントシン (7.00 ml, 2 mmole) を溶解させ、硫酸 (15 ml) を少量ずつ加えて溶解する。混合物に水冷槽下、30% -過酸化水素水 (1.65 ml, 1.6 mmole) を少量ずつ滴加する。過酸化水素水の滴加後、室温で 6 時間後搅拌を続ける。反応混合物に硫酸第一鉄・七水和物 (2.0 g, 7.2 mmole) を加え、水冷槽下に、5.0 ml-過酸化水素水 (1 ml, 9.8 mmole) を滴加し、室温で 1.5 時間後搅拌を続ける。反応完結には、更に硫酸第一鉄・七水和物 (4.2 g, 1.5 mmole) 及び 3.0 ml-過酸化水素水 (1.5 ml, 1.47 mmole) を加え、室温で 8 時間後搅拌を続ける。この反応混合物を水水 (2.5 L) で希釈し、クロロホルム (3 L) で抽出する。クロロホルム

- 8 -

更に n-ヘキサン-クロロホルムより再結晶する。標記化合物 265 号 (収率 25.5 g) が淡黄色針晶として得られる。

製造例 3

7-ヒドロキシメチルカントナントシンの製造

カントナントシン (1.00 g, 0.287 mmole) をメタノール (2.5 ml) に溶解し、水冷下 7.5 ml-硫酸 (1.0 ml) を加えて溶解し、蒸煮濃硫酸下過酸化アンモニウム (1.5 g, 0.0657 mmole) の水溶液 (100 ml) を 1.6 時間に亘つて滴加する。反応混合物を水水 (100 ml) に注ぎ、ジオキサン-クロロホルム混合液 (1:1, 500 ml) で抽出し、さらにクロロホルム (100 ml × 3) で抽出する。これらの有機層を合せて無水硫酸マグネシウムで乾燥し、伊通し、減圧で乾固し、残留した褐色の固体をメタノール (200 ml) を加えて溶解 (50~60°) 30 分間搅拌し不溶物を伊通し、減圧で乾燥し、ジメチルホルムアミド-ジオキサンより再結晶すると、調合化合物 40 号 (3.69 g) が淡黄色ブリズム結晶。

- 10 -

- 9 -

274~276°C (40°C) として得られる。Re 値 0.125
(5%メタノールクロロホルム)。

製造例 4

カンプトテシン-7-カルボン酸の製造

製造例 3 により得られた 7-ヒドロキシメチルカンプトテシン (200mg, 0.529mmole) をジオキサン (500mg) に溶解し、これに Jones 試薬 (2.5ml, 約5.35mmole) を加え室温で 2 日間攪拌する。析出物を除去し、汎液を減圧で乾固し、残留物 (1.5g) を加えて不溶物を溶解し、水 (50ml) で充分に洗う。析出物をジオキサンを用いて再結晶により精製すると、カンプトテシン-7-カルボン酸が淡黄色針状晶 (m.p. >300°C) として得られる。収量 9.5 mg (4.58%)。

製造例 5

7-アセトキシメチルカンプトテシンの製造

製造例 5 により得られた 7-ヒドロキシメチルカンプトテシン (200mg, 0.529mmole) をピリジン (4.0ml) に温時溶解し、放冷後無水

-11-

ホルム、カーヘキサンより再結晶を行うと、210mg (4.84%) の淡黄色针晶が得られる。
m.p. 279~280°C

製造例 7

製造例 3 により得られた 7-ヒドロキシメチルカンプトテシン 37.8mg (1mmole) を無水ジメチルホルムアミド 8.0ml に温時溶解し、これに無水ピリジン 1ml、無水 N_2O_4 1ml を加え 60°C にて 4 時間攪拌する。反応終了後エタノール 10ml を加え、しばらく攪拌して過剰の無水物を分解した後、溶液を減圧留去し、残留物をシリカゲル (1.0g) カラムクロマトグラフィ (クロロホルム) により精製すると、420mg (9.68%) の 7-ブロピオニロキシメチルカンプトテシンの粗結晶が得られる。これをクロロ

トリフルオロ酢酸 (300mg, 1.43mmole) を加え 40°C で 8 時間被拌する。反応混合物は減圧で減縮乾固し、残留物をシリカゲル (5.0g) カラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により分離し、精製すると、2.0~0.7-トリフルオロアセチル-7-トリフルオロアセトキシメチルカンプトテシンが淡黄白色の結晶として得られる。収量 120mg (3.97%)。

製造例 6

製造例 3 により得られた 7-ヒドロキシメチルカンプトテシン 37.8mg (1mmole) を無水ジメチルホルムアミド 8.0ml に温時溶解し、放冷後、無水ピリジン 1ml と無水プロピオノ酸 1ml を加え、室温にて 24 時間被拌する。次いで、エタノール 1.0ml を加え、しばらく攪拌し過剰の無水物を分解した後、溶液を減圧留去し、残留物をシリカゲル (1.0g) カラムクロマトグラフィ (クロロホルム) により精製すると、420mg (9.68%) の 7-ブロピオニロキシメチルカンプトテシンの粗結晶が得られる。これをクロロ

-12-

H_2O (20ml) に懸濁し、これに酸化銀 (6mg) を少量ずつ加えて全体を溶液とし、3.05 時間煮沸還元する。放冷後反応混合物を水 (500ml) で希釈し $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (500ml×3) で抽出する。この界面層と $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 層の両層に不溶な固体は回収、乾燥する (7-ヒドロキシメチルカンプトテシン、回収)。 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ 層を合せて MgSO_4 で乾燥し、伊述し、減圧で乾固する。その残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィ ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$) により精製すると 3.9mg (収率 2.97%) のカンプトテシン-7-アルデヒド [黄色ブリズム晶 m.p. 256~260°C (分解)] が得られる。

次に本発明の抗腫瘍剤の減液化例について記す。

例 1

カンプトテシン-7-カルボン酸をモルの NaOH を含む 0.05M の NaOH 溶液に溶解した後、漏過して得られる汎液を減圧乾燥して得られるカンプトテシン-7-カルボン酸の NaOH を 1000mg を含有するようバイアルに無菌的に封入、

-14-

m.p. 252~254°C

製造例 8

製造例 3 により得られた 7-ヒドロキシメチルカンプトテシン (200mg, 0.529mmole) を

-13-

密封した後各場所に保存する。

使用前に生理的食塩水 300ml を添加して直
状に応じて 1 日 10~500mg を静脈内への注射又
は点滴により投与する。

例 2

7-エチルカンブトテシンを 1500mg を含有
する他は例 1 と同様の方法により 1 日 10~500
mg を静脈内への注射又は点滴により投与する。

特許出願人 株式会社 ヤクルト本社

代理人 井理士 南 孝夫

特開昭57-116015(5)

手 疾 極 正 書

昭和56年5月19日

特許庁長官 島田春樹 殿

1. 事件の表示

昭和56年特許願第 // 50 号

2. 発明の名称

抗 腺 集 制

3. 補正をする者

事件との關係 特許出願人

住所 東京都渋谷区東新宿 / 丁目 /番 / 9号

名称 株式会社 ヤクルト本社

4. 代理人

住所 東京都千代田区麹町 3 丁目 2 番地
相互ビル

電話 (265) 9649

氏名 (7270) 南 孝夫 

5. 補正命令の日付

自 元

6. 補正の対象

明細書

- 15 -

7. 補正の内容

- (1) 明細書 6 頁、表 2 中の最少有効量の欄の最下
行の「?」の記載を「2」と訂正します。
- (2) 同 / 2 頁 / 行の「トリフルオロ酢酸」の記載
を「酢酸」と訂正します。
- (3) 同 / 2 頁 / 行の「1.43 mmole」の記載を
「3.00 mmole」と訂正します。
- (4) 同 / 2 頁 5 ~ 6 行の「20-0-トリフルオ
ロアセチル-7-トリフルオロアセトキシメチ」
の記載を「7-アセトキシメチ」と訂正します。
- (5) 同 / 2 頁 8 行の「(39.7%)」の記載を「
(54.0%)」と訂正します。

以 上